Iranian Food Science and Technology
Research Journal
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir

Research Article
Vol. 21, No. 2, May.-Jun., 2025, p. 235-251

Investigating the Effect of Natural Coating of Chitosan Nanoparticles and Nanohydroxyapatite on the Physiological Characteristics and Shelf Life of Button Mushroom (*Agaricus bisporus*)

Z. Ziaei Ghahnavieh[1], M. Raji[1*], A. Ehteshamnia[1], S.S. Sohrabi[2]

1- Department of Horticultural Science Engineering, Lorestan University, Khorramabad, Iran
(*- Corresponding Author Email: raji.m@lu.ac.ir)
2- Department of Production Engineering and Plant Genetic, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

Received: 22.10.2024 Revised: 30.11.2024 Accepted: 04.12.2024 Available Online: 23.04.2025	**How to cite this article:** Ziaei Ghahnavieh, Z., Raji, M., Ehteshamnia, A., & Sohrabi, S.S. (2025). Investigating the effect of natural coating of chitosan nanoparticles and nanohydroxyapatite on the physiological characteristics and shelf life of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 21*(2), 235-251. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.90381.1376

Introduction

Excessive human exposure to chemicals in agricultural practices contribute to the production of unhealthy and environmentally destructive products. For this reason, natural coatings are used to prevent adverse changes in the quality of various products. Natural coatings can be a barrier on the outer surface of food to prevent the loss of aromatic compounds, and moisture content and provide the possibility of selective natural exchange of some gases and increase shelf life post harvest. Considering the economic importance of button mushrooms and the need to provide optimal solutions to increase shelf life post harvest, the present study was conducted to investigate the effect of natural coatings based on chitosan nanoparticles and nanohydroxyapatite on increasing the shelf life of button mushrooms.

Materials and Methods

For this purpose, the effect of these coatings was evaluated in a factorial experiment in the form of a completely randomized design with three repetitions to prevent adverse changes in button mushroom quality. Button mushrooms were covered with different concentrations of chitosan nanoparticles (zero, 1% and 2%) and nanohydroxyapatite (0, 40, 80 mg) for 28 days. The mushrooms that were prepared for coating were divided into 9 groups. One sample without coating and 8 samples were coated with different percentages of chitosan nanoparticles and nanohydroxyapatite and coded. All mushroom sampless were immersed in each of the coating solutions for five minutes. The mushrooms were then taken out of the solutions and placed on the mesh basket (at room temperature) for 15 to 30 minutes so that the additional amount of coating material drips. Then the mushrooms were weighed individually and six numbers were transferred in three replicates in single-use plastic containers with perforated lids. Then they were transferred to the refrigerator. The control sample was immersed in distilled water for 5 minutes instead. The data was measured on days 0, 7, 14, 21 and 28. After coating, the characteristics of total phenol, flavonoid, antioxidant capacity, total protein, ascorbic acid content, and electrolyte leakage of mushrooms were recorded and analyzed during 28 days of storage.

Results and Discussion

Based on the results, the highest amount of total phenol, flavonoid, antioxidant capacity, ascorbic acid content, total protein, and the lowest amount of electrolyte leakage were obtained in 1% nano chitosan coating containing 40 mg of nanohydroxyapatite during 28 days of storage. In the control treatment (without coating), the lowest

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.90381.1376

amount of total phenol, flavonoid, antioxidant capacity, ascorbic acid content, total protein, and the highest amount of electrolyte leakage were obtained during 28 days of storage.

Conclusion

Due to the high perishability of button mushroom, its maintenance is very important. Coating is considered as one of the methods of keeping quality of button mushrooms. The purpose of this study was to evaluate the effect of natural coating based on chitosan nanoparticles and nanohydroxyapatite on the total phenolic, flavonoid, antioxidant capacity, ascorbic acid content, electrolyte leakage, and total protein of mushrooms on zero, 7, 14, 21, and 28 day, in order to maintain quality and increase the shelf life of button mushroom. For this purpose, the coating of chitosan nanoparticles (zero, 1%, 2%), nanohydroxyapatite (zero, 40, 80 mg), and the combination of chitosan nanoparticles with nanohydroxyapatite in the mentioned concentrations were used. Finally, according to the findings of this study, it can be stated that coating with 1% nano chitosan containing 40 mg of nanohydroxyapatite can increase the shelf life of button mushroom up to 14 days post harvest, with increased marketability.

Author Contributions

Zahra Ziaei Ghahnavieh: data collection, writing - original draft, Mohammad Reza Raji: project management, writing - review and editing, Abdullah Ehtsham Nia: project management, data management, writing - review and editing, Seyed Sajjad Sohrabi: data management.

Keywords: Edible coating, Edible mushrooms, Nanochitosan, Nanohydroxyapatite, Post-harvest life

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
https://ifstrj.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۲۱، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۴۰۴، ص. ۲۵۱-۲۳۵

بررسی اثر پوشش طبیعی نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر صفات فیزیولوژیکی و ماندگاری قارچ دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*)

زهرا ضیائی قهنویه[۱]- محمد رضا راجی[۱*]- عبدالله احتشام نیا[۱]- سید سجاد سهرابی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۴

چکیده

امروزه در بخش کشاورزی تولید محصولات ناسالم باعث استفاده از پوشش‌های طبیعی جهت جلوگیری از تغییرات نامطلوب کیفی و افزایش ماندگاری پس از برداشت محصولات مختلف شده است. از این رو پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر پوشش‌های طبیعی مبتنی بر نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر افزایش ماندگاری قارچ دکمه‌ای انجام شد. بدین منظور اثر این پوشش‌ها در آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار جهت جلوگیری از تغییرات نامطلوب بر روی کیفیت قارچ دکمه‌ای ارزیابی شد. فاکتورهای آزمایش شامل سطوح پوشش‌دهی قارچ دکمه‌ای با غلظت‌های مختلف نانوکیتوزان (صفر، ۱ و ۲ در صد) و نانوهیدروکسی آپاتیت (۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم) به‌مدت ۲۸ روز بود. بعد از پوشش‌دهی صفات فنل کل، فلاونوئید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، پروتئین کل، محتوای اسید آسکوربیک و نشت الکترولیت قارچ‌ها طی ۲۸ روز نگه‌داری یادداشت برداری و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج نشان داد که در پوشش نانوکیتوزان یک در صد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم بیش‌ترین میزان فنل کل، فلاونوئید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای اسید اسکوربیک، پروتئین کل و کم‌ترین میزان نشت الکترولیت در طی ۲۸ روز ذخیره سازی نسبت به تیمار شاهد حاصل شد. در تیمار شاهد (بدون پوشش) کم‌ترین میزان فنل کل، فلاونوئید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای اسید اسکوربیک، پروتئین کل و بیش‌ترین میزان نشت الکترولیت در طی ۲۸ روز ذخیره سازی حاصل شد. در نهایت با توجه به یافته‌های این مطالعه می‌توان چنین اظهار نمود که پوشش‌دهی با نانوکیتوزان یک در صد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم می‌تواند ماندگاری پس از برداشت قارچ دکمه‌ای را تا ۱۴ روز افزایش دهد که قابلیت بازارپسندی را دارد.

واژه‌های کلیدی: پوشش خوراکی، عمر پس از برداشت، قارچ خوراکی، نانوکیتوزان، نانوهیدروکسی آپاتیت

مقدمه

قارچ دکمه‌ای با نام علمی (*Agaricus bisporus*) به‌دلیل ارزش غذایی بالا یکی از مهم‌ترین گونه‌های قارچ خوراکی از نظر اقتصادی می‌باشد. قارچ خوراکی منبع خوبی از پروتئین، مواد معدنی، پلی ساکاریدها، آنتی‌اکسیدان‌ها، فیبر غذایی و ویتامین‌ها است، اما محتوای کربوهیدرات و چربی کمی دارد (Qian *et al*., 2021). همچنین حاوی ترکیبات بیولوژیکی مختلف با خواص ضدتوموری، ضدمیکروبی، آنتی-اکسیدان‌ها، سیستم ایمنی تعدیل کننده و ضدالتهابی است (Karimirad *et al*., 2019).

ماندگاری کوتاه قارچ‌ها مشکل اصلی در توزیع پس از برداشت و بزرگ‌ترین محدودیت در توسعه صنعتی آن‌ها است. دلایل اصلی ماندگاری محدود آن‌ها شامل از دست دادن آب، قهوه‌ای شدن، فعالیت

۱- گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: raji.m@lu.ac.ir)
۲- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.90381.1376

پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO) ناشی از آسیب بافتی، تهاجم میکروبی، فعالیت متابولیک بالا، تنفس و پیری طبیعی است (Fattahifar *et al*., 2018). پوشش چتر به راحتی باز می‌شود و قهوه‌ای می‌شود و بافت نیز به راحتی نرم و اسفنجی می‌شود (Shao *et al*., 2021). مدت ماندگاری قارچ دکمه‌ای از یک تا سه روز در دمای محیط، تا حدود هشت روز در شرایط سردخانه در نوسان است (Paula *et al*., 2021).

روش‌های زیادی برای افزایش ماندگاری قارچ‌های پس از برداشت وجود دارد. این روش‌ها را می‌توان به سه نوع، بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده، پوشش کیتوزان، و خیساندن شیمیایی طبقه‌بندی کرد. به‌عنوان مؤثرترین روش فیزیکی، بسته‌بندی در اتمسفر اصلاح شده بسیار پرهزینه است و امکان‌پذیر نیست و برخی از معرف‌های شیمیایی ممکن است برای سلامتی انسان خطرناک باشند (Hu *et al*., 2020). بنابراین، برای افزایش دوره نگهداری پس از برداشت و حفظ کیفیت *A. bisporus*، استفاده از روش‌های نگهداری مناسب ضروری است.

امروزه استفاده از پوشش‌های طبیعی به‌عنوان یک فناوری به نسبت جدید و ساده در جلوگیری از تغییرات نامطلوب کیفی محصولات مختلف بسیار مؤثر می‌باشد (Qian *et al*., 2021). پوشش‌های طبیعی از پلیمرهای طبیعی تهیه می‌شوند و استفاده از آن‌ها باعث ارتقاء کیفی و بهداشتی موادغذایی می‌شود (Khosravi *et al*., 2022). پوشش‌های طبیعی و خوراکی بـه پوشش‌های پروتئینی، پلی‌ساکاریدی، لیپیدی و یا ترکیبی از آن‌ها تقسیم‌بندی می‌شوند و می‌توانند با به تأخیر انداختن در کاهش از دستدهی آب، حفظ ترکیبات معطر، کاهش تنفس و تأخیر در تغییرات ساختاری میوه، موجب افزایش نگهداری محصولات غذایی شوند (Karimirad *et al*., 2020).

رویکرد جدید فناوری نانو یکی از مهم‌ترین اولویت‌های تحقیقاتی محسوب می‌شود (Huang *et al*., 2023). تفاوت اصلی فناوری نانو با فناوری‌های دیگر تنها کوچک بودن اندازه نیست بلکه زمانی‌که اندازه مواد در این مقیاس قرار می‌گیرد، خصوصیات ذاتی آن‌ها از جمله رنگ و استحکام تغییر می‌کند (Pabast *et al*., 2018). محصور کردن ترکیبات فعال زیستی در اندازه نانومتر موجب افزایش فعالیت بیولوژیکی آن‌ها شده و آزادسازی تدریجی اسانس از سطح بزرگ را فراهم می‌کند (Karimirad *et al*., 2020).

کیتوزان یک پلی‌ساکارید کاتیونی است که از استیل‌زدایی کیتین، که جزء اصلی اسکلت بیرونی سخت‌پوستان و دومین پلی‌ساکارید فراوان در طبیعت است، به‌دست می‌آید. به‌دلیل خواص غیر سمی، زیست تخریب‌پذیر، زیست‌سازگار، آنتی‌اکسیدانی ذاتی و تشکیل پوشش، کیتوزان به‌عنوان یک جزء ایده آل برای پوشش‌های طبیعی در نظر گرفته می‌شود (Liu *et al*., 2019). فیلم کیتوزان دارای انعطاف‌پذیری، دوام، استحکام، مقاومت در برابر شکستگی بالا، ضدمیکروبی و نفوذپذیری انتخابی در برابر گازها است. علاوه بر این، ادغام ترکیبات ضدمیکروبی و یا آنتی‌اکسیدانی در پوشش کیتوزان می‌تواند خواص فیزیکی، مکانیکی و بیولوژیکی پوشش را بیش‌تر بهبود بخشد (Zhang *et al*., 2019). بااین وجود، پوشش کیتوزان خالص دارای خواص بازدارنده ضعیف، پایداری مکانیکی و انحلال‌پذیری آسان است (Zhang *et al*., 2019).

مواد ضدمیکروبی و ضدباکتری طبیعی به‌دست آمده از ضایعات موجودات را می‌توان برای توسعه بسته‌بندی فعال زیست‌تخریب‌پذیر، که جایگزین جالبی برای صنعت بسته‌بندی موادغذایی است، استفاده کرد (Shao *et al*., 2021). هیدروکسی آپاتیت پایدارترین و زیست سازگارترین شکل فسفات کلسیم با فرمول شیمیایی $[Ca_{10}(Po_4)_6(OH)_2]$ است که یکی از مواد معدنی اولیه است (Sharifianjazi *et al*., 2021). هیدروکسی آپاتیت یک نمونه معمولی از مواد زیست‌فعال است (Victor Aberea *et al*., 2022). نانوهیدروکسی آپاتیت باید پایداری مکانیکی خوبی داشته باشد تا ساختار خود را حفظ کند در مقایسه با سایر فسفات‌های کلسیم، هیدروکسی آپاتیت یک ترکیب پایدارتر در شرایط فیزیولوژیکی مانند ترکیب مایعات بدن، دما و pH است (Victor Aberea *et al*., 2022). هیدروکسی آپاتیت نانوساختار (FNHAp) به کار گرفته شده از ضایعات فلس ماهی فراوان به دست آمده از ماهی *Garra mullya* از طریق یک روش عملیات حرارتی قلیایی آسان مشتق شده است. افزایش مسائل زیست‌محیطی و کاهش سوخت‌های فسیلی منجر به ظهور فناوری‌های پایدار و اقتصادی شده است (Eswaran *et al*., 2021).

قرجلو و همکاران (Gharejelo *et al*., 2020) در مطالعه‌ای تأثیر پوشش‌دهی با کیتوزان و اسانس گیاه چویل (*Ferulago angulate*) بر روی ماندگاری قارچ دکمه‌ای را بررسی کردند و نتیجه گرفتند که ساختار کیتوزان و خاصیت ضدمیکروبی و ترکیبات فنلی موجود در اسانس علت اصلی حفظ کیفیت نمونه‌های قارچ در طی نگه‌داری بود. کریمی راد و همکاران (Karimirad *et al*., 2019) به بررسی اثر نانوذرات کیتوزان حاوی اسانس زیره سبز (CEO-CSNPs) بر ماندگاری قارچ دکمه‌ای طی ۲۰ روز نگه‌داری در سردخانه پرداختند و نتیجه گرفتند که در مقایسه با نمونه‌های کنترلی که پس از ۱۰ روز ذخیره‌سازی کیفیت خود را از دست می‌دهند، به کیفیت کلی قابل قبول اشاره کرد. در مطالعات مختلف اثر نانوهیدروکسی آپاتیت بر روی رشد محصولات مختلف بررسی شده است. در پژوهشی کارایی بالاتر نانوهیدروکسی آپاتیت نسبت به کودهای فسفر معمولی مشاهده شد (Priyam *et al*., 2022). در مطالعه جیانگ و همکاران مهار طویل شدن هیپوکوتیل جوانه‌های ماش به حضور نانوساختارها در سلول‌ها و افزایش غلظت کلسیم نسبت داده شد (Landa *et al*., 2024).

در پژوهش حاضر، فرض بر این است که تیمار نانوکیتوزان، تیمار نانوهیدروکسی آپاتیت و ترکیب این تیمارها باعث افزایش ماندگاری پس از برداشت می‌شود. با توجه به اهمیت اقتصادی قارچ دکمه‌ای و ضرورت ارائه راهکارهای مطلوب افزایش ماندگاری پس از برداشت، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر پوشش طبیعی نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر ویژگی‌های مختلف قارچ دکمه‌ای انجام شد.

مواد و روش‌ها

ابتدا قارچ دکمه‌ای در مهرماه ۱۴۰۲ از کارگاه پرورش قارچ واقع در شهرک صنعتی استان لرستان تهیه شد. کیتوزان با مشخصات (وزن مولکولی: ۱۹۰–۳۱۰ کیلو دالتون بر اساس ویسکوزیته؛ ویسکوزیته: ۲۰۰–۸۰۰ cP؛ درجه استیلاسیون: ۷۵–۸۵٪)، و نانوهیدروکسی آپاتیت با مشخصات (وزن مولکولی: ۱۰۴/۶ گرم بر مول؛ اندازه ذرات: ۳۰–۱۰ نانومتر؛ چگالی ۳/۰۷ گرم بر سانتی‌متر مکعب)، از شرکت تماد کالا تهران تهیه شد. سپس مراحل تیمار و پوشش‌دهی به شرح ذیل انجام شد.

تهیه محلول‌های پوشش‌دهی

محلول پوشش‌دهی کیتوزان یک درصد

برای تهیه تیمار محلول پوشش‌دهی نانوکیتوزان ابتدا باید محلول پوشش‌دهی کیتوزان تهیه شود. بنابراین برای تهیه محلول پوشش‌دهی کیتوزان ابتدا با افزودن یک گرم پودر کیتوزان، ۹۹ سی‌سی آب مقطر و یک سی‌سی استیک اسید و هم زدن بدون حرارت‌دهی انجام شد و سپس برای تبدیل به نانوکیتوزان و اعمال تیمار به‌ترتیب زیر عمل شد.

محلول پوشش‌دهی نانوکیتوزان یک درصد

محلول پوشش‌دهی با افزودن ۰/۵ گرم پودر سدیم تری‌پلی‌فسفین در ۱۵۰ سی‌سی آب مقطر حل شد و سپس در بورت ریخته شد و قطره قطره به محلول کیتوزان یک درصد اضافه شد و به‌طور مکرر سونیک و هم‌زدن بدون حرارت‌دهی انجام شد (Karimirad *et al*., 2020). در نهایت pH محلول به ۵/۵ رسانده شد و سپس فقط محلول پوشش دهی نانوکیتوزان برای اعمال تیمار استفاده شد. از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدان (FE-SEM, Mara3 Tescan, Czech Republic) برای بررسی اندازه نانو و خصوصیات مورفولوژیکی نانوکیتوزان استفاده شد.

محلول پوشش‌دهی کیتوزان دو درصد

ابتدا محلول پوشش‌دهی با افزودن دو گرم پودر کیتوزان، ۹۹ سی سی آب مقطر و یک سی‌سی استیک اسید و هم زدن بدون حرارت‌دهی انجام شد و سپس برای تبدیل به نانوکیتوزان و اعمال تیمار به‌ترتیب زیر عمل شد.

محلول پوشش‌دهی نانوکیتوزان دو درصد

محلول پوشش‌دهی با افزودن ۰/۵ گرم پودر سدیم تری‌پلی‌فسفین در ۱۵۰ سی‌سی آب مقطر حل شد و سپس در بورت ریخته شد و قطره قطره به محلول کیتوزان دو درصد اضافه شد و به‌طور مکرر سونیک و هم زدن بدون حرارت‌دهی انجام شد (Karimirad *et al*., 2020). در نهایت pH محلول به ۵/۵ رسانده شد و سپس فقط محلول پوشش‌دهی نانوکیتوزان برای اعمال تیمار استفاده شد.

تهیه محلول‌های میکس

محلول‌های پوشش‌دهی نانوکیتوزان یک درصد و دو درصد با نانوهیدروکسی آپاتیت

محلول پوشش‌دهی نانوکیتوزان یک درصد را با اضافه کردن ۵ سی سی توبین ۸۰ درصد و ۱۰ قطره گلیسرول ۸۵ درصد بار دیگر تهیه کرده و سپس ۱۰۰ سی‌سی از آن را برداشته و با افزودن ۴۰ میلی‌گرم نانوهیدروکسی آپاتیت به ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر مخلوط کردیم و در نهایت درون ۳ لیتر آب مقطر حل کرده و دو قطره توبین به آن اضافه شد. سپس برای غلظت نانوکیتوزان یک درصد حاوی ۸۰ میلی‌گرم نانوهیدروکسی آپاتیت نیز به همین ترتیب عمل کردیم. تهیه محلول میکس نانوکیتوزان دو درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت به همین ترتیب صورت گرفت.

محلول پوشش‌دهی غلظت‌های مختلف نانوهیدروکسی آپاتیک

غلظت‌های مختلف نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم وزن گردید و سپس افزودن ۴۰ میلی‌گرم نانوهیدروکسی آپاتیت به ۱۰۰ سی سی آب مقطر انجام شد و برای حل شدن، استیرر صورت گرفت. در نهایت غوطه‌وری قارچ‌ها در محلول به‌دست آمده، ۳ لیتر آب مقطر و اضافه کردن دو قطره توبین انجام شد. تهیه این محلول پوشش‌دهی برای غلظت نانوهیدروکسی آپاتیت ۸۰ میلی‌گرم نیز مانند غلظت ۴۰ میلی‌گرم انجام شد.

آماده‌سازی نمونه

قارچ‌های دکمه‌ای برداشت شده از چین دوم در کم‌ترین زمان به آزمایشگاه انتقال داده شدند سپس با آب مقطر شست و شو و ساقه آن‌ها کوتاه شد و برای غوطه‌وری در تیمارهای مورد مطالعه آماده شدند.

پوشش‌دهی قارچ‌ها

قارچهایی که برای پوشش‌دهی آماده شدند به ۹ گروه تقسیم شدند. یک نمونه بدون پوشش و ۸ نمونه حاوی پوشش با درصدهای متفاوت نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت تهیه و کدگذاری شدند. قارچها به روش غوطه‌وری طبق تیمار مورد نظر داخل هر کدام از محلول‌های پوشش‌دهی به‌مدت پنج دقیقه قرار گرفتند. قارچ‌ها از محلول‌ها خارج شدند و به‌مدت ۱۵ الی ۳۰ دقیقه بر روی سبد مشبک (در دمای آزمایشگاه) قرار گرفتند تا مقدار اضافه ماده پوشش‌دهنده چکه کند. سپس قارچها به‌صورت انفرادی توزین شده و تعداد شش عدد در سه تکرار درون ظروف پلاستیکی بسته‌بندی یک بار مصرف دارای درب سوراخ‌دار منتقل شدند. سپس به یخچال با دمای چهار درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. نمونه شاهد به‌مدت ۵ دقیقه داخل آب مقطر غوطه‌ور شد. اندازه‌گیری داده‌ها در روزهای صفر، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ انجام گرفت.

اندازه‌گیری محتوای فنل کل

عصاره‌گیری قارچ‌ها

عصاره‌گیری قارچ دکمه‌ای برای اندازه‌گیری فنل کل با استفاده از روش بخشی و آراکاوا (Bakhshi & Arakawa, 2006) انجام شد. به این منظور در ابتدا مقدار یک گرم از بافت تازه قارچ در هاون چینی پودر و سپس ۳ میلی‌لیتر حلال استخراج (متشکل از ۸۰ درصد متانول + ۲۰ درصد آب مقطر) به آن اضافه شد. آن گاه عصاره حاصل از نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری و در نهایت پس از ریخته شدن در لوله فالکون با دور ۱۰۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس محلول رویی را برداشته و رسوب دور ریخته شد.

محتوای فنل کل در عصاره‌ها با روش فولین سیو کالچو انجام شد. ابتدا ۵۰ میکرولیتر عصاره نمونه‌ها با آب مقطر به حجم ۲۰۰ میکرولیتر رسانده و ۱۰۰۰ میکرولیتر فولین ۱۰ درصد به آن اضافه کردیم. پس از ۵ دقیقه از افزودن فولین مقدار ۸۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد نیز به آن اضافه کردیم. سپس محلول به‌دست آمده به‌مدت ۹۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق نگه‌داری و آن‌گاه میزان جذب عصاره توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. در نهایت میزان فنل کل از روی میزان جذب نمونه و مقایسه آن با استاندارد بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در یک گرم بافت تازه محاسبه شد.

اندازه‌گیری فلاونوئید

محتویات فلاونوئیدی قارچ دکمه‌ای با استفاده از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم (Chang *et al*., 2002) انجام شد. با استفاده از عصاره تهیه شده برای فنل‌ها ابتدا ۱۰۰۰ میکرولیتر از عصاره را برداشته و با ۱۰۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلرید مخلوط کردیم. سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه ورتکس کردیم و به‌مدت ۱۵ دقیقه استراحت و سپس با دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت کردیم. محتوای فلاونوئید کل محاسبه و به‌صورت میکروگرم معادل روتین (RE) در هر گرم نمونه بیان شد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (FRAP)[1]

برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قارچ دکمه‌ای محتوای مواد واکنش شامل ۸۰ میکرولیتر از عصاره نمونه مورد نظر (از همان عصاره تهیه شده برای فنل‌ها) به ۷۲۰ میکرولیتر از معرف FRAP (۱۰۰ میلی‌لیتر از بافر استات سدیم ۳۰۰ میلی‌مولار در pH 3.6، ۱۰ میلی‌لیتر از TPTZ ۱۰ میلی‌مولار و ۱۰ میلی‌لیتر از $FeCl_3.6H_2O$ ۲۰ میلی مولار) اضافه شد و مخلوط واکنش انکوبه شد. در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه و افزایش جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری شد. $FeSO_4$ برای کالیبراسیون استفاده شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس توانایی کاهش یون‌های آهن نمونه از منحنی کالیبراسیون خطی محاسبه شده و به‌صورت mmol معادل $FeSO_4$ در هر گرم نمونه بیان شد (Benzie & Strain, 1996).

نشت الکترولیت

برای تعیین نشت‌یونی از روش ارائه شده توسط سایرام و همکاران استفاده شد (Sairam & Srivastava, 2002). برای اندازه‌گیری این پارامتر از نمونه‌های درون هر بسته (کلاهک و پایه قارچ) ۲ گرم (از هر نمونه ۲ سری) درون فالکن حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر منتقل شدند. سپس یک گروه از نمونه‌ها در دمای ۴۰ درجه به‌مدت ۳۰ دقیقه و سری دیگر در دمای۱۰۰ درجه به‌مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری (مدل دنا ساخت کشور ایران) قرار داده شدند، میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها بعد از رسیدن به دمای اتاق توسط EC متر (مدل 400L، ساخت

1- Ferric Reducing Antioxidant Power Assay

کشورکره‌جنوبی) اندازه‌گیری شد. سپس درصد نشت‌یونی با فرمول (۱) محاسبه گردید:

نشت الکترولیت $=EC(2)- EC(1)/EC(2)\times 100$ (۱)

در معادله فوق $EC(1)$ و $EC(2)$ به‌ترتیب بیانگر هدایت الکتریکی در دمای اولیه و هدایت الکتریکی در دمای ثانویه است.

ویتامین C

محتوای ویتامین C با روش تیتراسیون انجام شد. بدین‌صورت‌که ۵ میلی‌لیتر از عصاره قارچ را با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲ میلی‌لیتر چسب نشاسته یک درصد مخلوط شد. سپس با استفاده از محلول ید تیتر شد تا به رنگ مایل به بنفش شود و عدد بورت را یادداشت کردیم و میزان ویتامین C با فرمول (۲) محاسبه گردید:

$A=S\times N\times F\times 88.1/10\times 100$ (۲)

$F=A/B\times N\times 88.1$

در معادله فوق A، N، F، S و B به‌ترتیب بیانگر میزان اسید آسکوربیک در عصاره، نرمالیته محلول ید مصرف شده، فاکتور محلول ید مصرف شده، محلول ید مصرف شده و مقدار محلول ید مصرف شده است.

پروتئین کل

سنجش پروتئین کل بر اساس روش بردفورد و همکاران (Bradford *et al.*, 1976) انجام گرفت. به این منظور ۰/۵ گرم از بافت تازه قارچ با ازت مایع در هاون‌چینی پودر شد و یک سی‌سی از بافر فسفات تهیه شده به آن اضافه شد و پس از ورتکس و سانتریفیوژ با دور ۱۴۰۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد محلول رویی را جدا کرده و مجدد به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ کردیم سپس به لوله‌های آزمایش مقدار ۵۰ میکرولیتر از محلول رویی عصاره پروتئینی و ۲۹۵۰ میکرولیتر معرف بردفورد افزوده و پس از ۱۵ دقیقه و قبل از یک ساعت جذب آن‌ها را با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت کردیم و غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد با کمک آلبومن گاوی محاسبه گردید. میزان پروتئین کل برای تک تک نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیان شد.

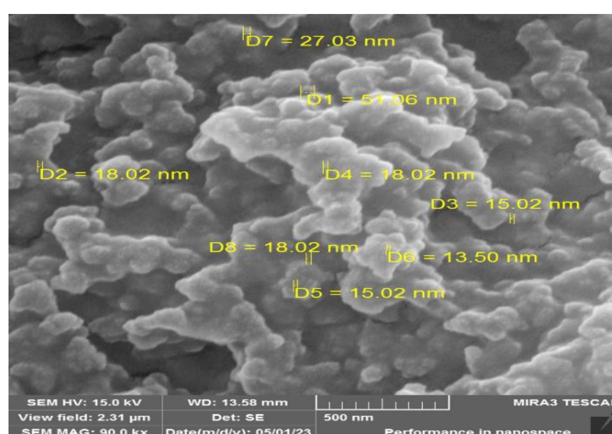
طرح آماری و آنالیز داده‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. از نرم‌افزار SAS جهت تجزیه و تحلیل آماری استفاده گردید.

نتایج و بحث

مورفولوژی نانوکیتوزان توسط یک میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدان (FESEM) آنالیز شد. تصاویر FESEM از نانوکیتوزان یک شکل کروی و توزیع منظم را نشان دادند. اندازه متوسط نانوکیتوزان بین ۱۳ و ۵۱ نانومتر توزیع شد (شکل ۱).

جدول ۱ تجزیه واریانس اثر نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر صفات، فنل‌کل، فلاونوئید، FRAP، نشت الکترولیت، پروتئین کل و ویتامین C بر ماندگاری پس از برداشت قارچ دکمه‌ای را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج این جدول اثرات یگانه، دوگانه و اثر سه گانه تیمارها بر روی اندازه‌گیری صفات ذکر شده بر عمر ماندگاری قارچ دکمه‌ای در سطح یک درصد معنی‌دار شد.



شکل ۱- میکروگراف FESEM از نانوذرات کیتوزان تهیه شده

Fig. 1. FESEM micrograph of prepared chitosan nanoparticles

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر ماندگاری پس از برداشت قارچ دکمه‌ای

Table 1- Variance analysis of the effect of nanochitosan and nanohydroxyapatite, on shelf life after harvesting button mushroom

منابع تغییرات Sources of change	df	فنل کل Total phenol	فلاونوئید Flavonoid	ظرفیت آنتی اکسیدانی FRAP	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	پروتئین کل Total protein	ویتامین C Vitamin C
روز Day	4	10758.73**	5069.43**	0.077**	0.59**	0.838**	0.000012**
نانوکیتوزان Nanochitosan	2	10059.58**	10716.63**	0.00018**	0.29**	1.147**	0.0000077**
نانوهیدروکسی آپاتیک Nano hydroxyapatite	2	2037.31**	1748.46**	0.017**	0.056**	0.129**	0.0000018**
روز*نانوکیتوزان Day* Nanochitosan	8	1538.78**	136.33**	0.0037**	0.054**	0.082**	0.00000067**
روز* نانوهیدروکسی آپاتیک Day*Nano hydroxyapatite	8	342.58**	41.24**	0.0023**	0.011**	0.016**	0.00000030**
نانوکیتوزان*نانوهیدروکسی آپاتیک Nanochitosan*Nanohydroxyapatite	4	426.006**	351.22**	0.0086**	0.004**	0.013**	0.00000005**
روز*نانوکیتوزان*نانوهیدروکسی آپاتیک Day*Nanochitosan*Nano hydroxyapatite	16	70.30**	7.16**	0.0021**	0.001**	0.0007**	0.00000001**
خطا Error	90	0.059	0.19	0.0000060	0.000013	0.00014	0.00000
کل Total	134	–	–	–	–	–	–
ضریب تغییرات Coefficient ofVariation	–	0.061	0.99	0.716	1.35	1.68	1.17

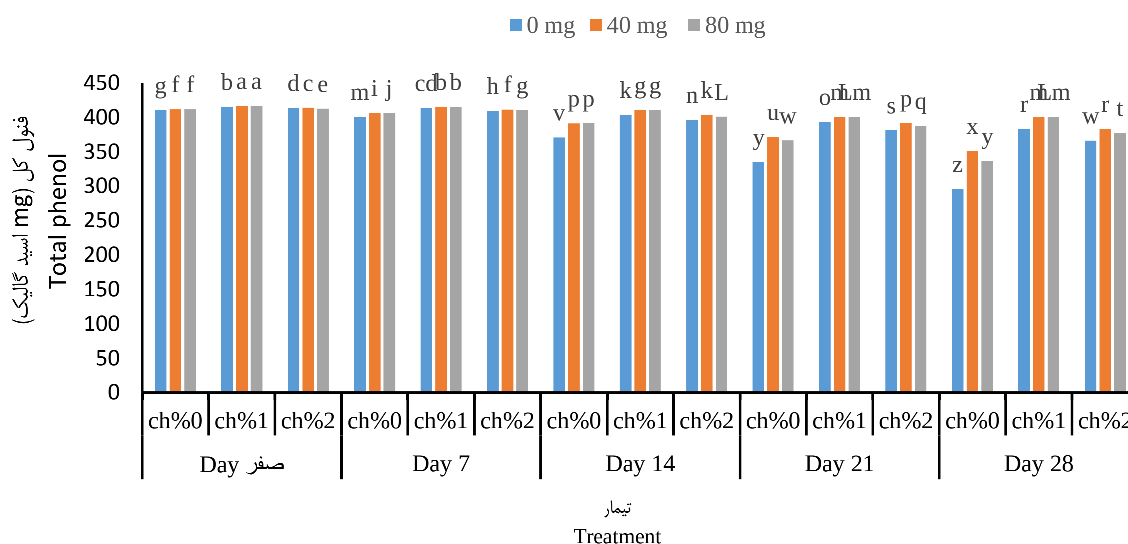
**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح آماری یک و پنج درصد و غیرمعنی‌دار است.

* ,** and ns are respectively significant at the statistical level of one and five percent and insignificant

محتوای فنل‌کل

همان‌طور که در نمودار شکل ۲ نشان داده شده است، کاهش تدریجی محتوای فنل‌کل در قارچهای بدون پوشش و پوشش داده شده در طول ذخیره‌سازی مشاهده شد. بااین وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان منجر به افزایش سطوح فنل‌کل در مقایسه با گروه کنترل (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان فنل‌کل در تیمار نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم روز صفر نگهداری به‌ترتیب با میزان (۴۱۶/۵۲) و (۴۱۶/۶۱) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر پوشش‌ها بجز تیمار بدون پوشش روز ۲۸ نگهداری داشت. به‌طور خاص، در تمام روزهای نگهداری، گروه کنترل بدون پوشش کم‌ترین فنل‌کل را نشان داد. و در روز ۲۸ نگهداری نسبت به سایر روزها به میزان کم‌تر ۲۹۵/۷۳ شد که با کم‌ترین تیمار سایر روزهای نگهداری تفاوت معنی‌داری را نشان داد. در مقابل، نمونه تیمار شده با پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بیش‌ترین فنل‌کل را نشان داد که تأثیر قابل توجهی از تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند.

قارچ منبعی غنی از بسیاری از مواد با خواص آنتی‌اکسیدانی، به‌ویژه اجزای پلی‌فنلی است که یکی از گروه‌های اصلی متابولیت‌های ثانویه هستند (Louis *et al.*, 2021). به‌طور کلی، فنل‌ها عملکرد دوگانه‌ای در قارچ دارند (Dokhanieh & Aghdam, 2016). از یک طرف، فنل ها می‌توانند توسط PPO اکسید شوند که منجر به قهوه‌ای شدن می‌شود، که به‌عنوان اصلی‌ترین علامت استرس پس از برداشت قارچ است. از سوی دیگر، فنل‌های انباشته شده در قارچ دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی قوی است که می‌تواند پراکسیداسیون لیپیدی را از طریق مهار شروع یا انتشار واکنش‌های زنجیره‌ای اکسید کننده به تأخیر بیندازد (Dokhanieh & Aghdam, 2016). گزارش شده است که بین دما و محتوای فنلی‌کل میوه‌ها رابطه وجود دارد، زیرا ذخیره‌سازی سرد با تغییر متابولیسم فنل منجر به افزایش محتوای فنلی می‌شود (Camargo & Dunoyer, 2016).



شکل ۲- ارزیابی پوشش‌دهی با نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر محتوای فنل‌کل نمونه‌های قارچ دکمه‌ای

حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنادار است (p< ۰/۰۵)

Fig. 2. Evaluation of coating with nanochitosan and nanohydroxyapatite on the total phenolic content of button mushroom samples

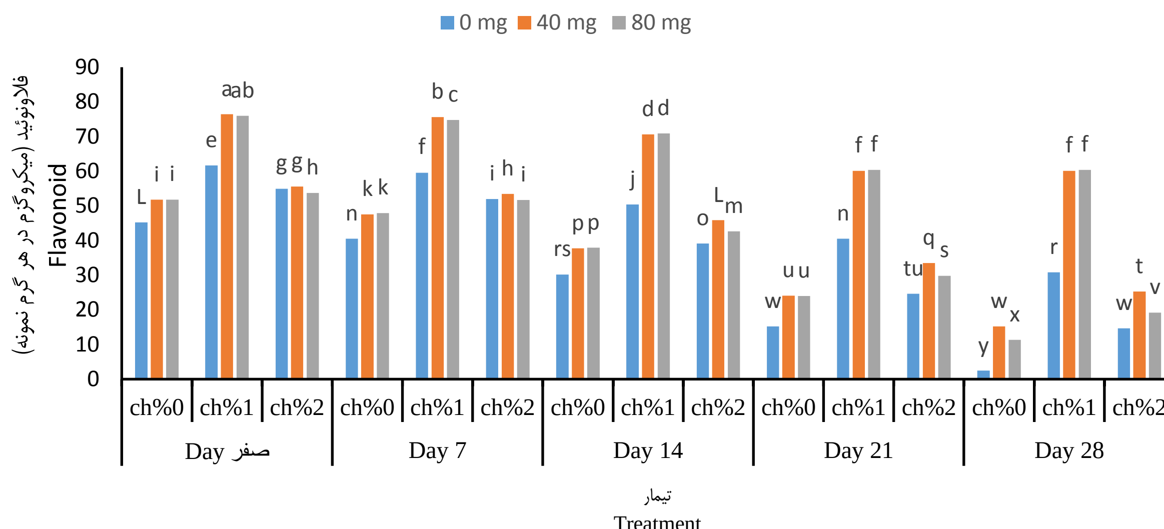
Different letters above the columns indicate significant difference (p<0.05)

طی مطالعه‌ای بر روی اثر نانوذرات کیتوزان با اسانس زیره سبز (CEO-CSNPs) بر ماندگاری قارچ دکمه‌ای طی ۲۰ روز نگه‌داری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نشان داده شد که، تغییرات محتوای فنلی در قارچ‌های ذخیره شده نسبت به شاهد کم‌تر کاهش یافت (Karimirad *et al*., 2019). فتاحی فر و همکاران (Fattahifar *et al*., 2018) در آزمایشی اثر بازدارندگی عصاره آبی پوسته سبز پسته بر فعالیت تیروزیناز قارچ پس از برداشت را مورد بررسی قرار دادند و اندازه‌گیری محتوای فنلی‌کل قارچ‌ها در روزهای ۱ و ۱۰ نگه‌داری نشان داد که، در روز اول، محتوای فنلی‌کل قارچ‌های تیمار شده با عصاره پوست سبز پسته، اسیدهای اسکوربیک سیتریک و متابی سولفیت سدیم به‌ترتیب ۳۲/۳، ۲۲/۶ و ۶۴/۵ درصد بیش‌تر از شاهد بود. در روز دهم، تنها قارچ‌های تیمار شده با عصاره پوست سبز پسته دارای محتوای فنلی‌کل بالاتر (۱۰,۴٪) و قارچ‌های تیمار شده با اسیدهای اسکوربیک سیتریک و متابی سولفیت سدیم به‌ترتیب ۱۰,۴ و ۱۲/۵ درصد محتوای فنلی‌کل کم‌تری نسبت به شاهد داشتند. تیمارهای متابی‌سولفیت سدیم و اسیدهای اسکوربیک سیتریک نتوانستند پس از ۱۰ روز از اکسیداسیون ترکیبات فنولی جلوگیری کنند و محتوای فنلی‌کل قارچ‌ها کاهش یافت. در مطالعه‌ای اثرات کوددهی انواع مختلف NMهای مبتنی بر P را که از نظر شکل، اندازه و مسیر سنتز متفاوت هستند با استفاده از OECD TG 208 بر روی *Solanum lycopersicum* (Pusa Rohini، گوجه فرنگی هندی) بررسی شد. کاربرد خاکی nHAPs و nP به‌عنوان نانومواد مغذی فسفر استفاده شد. در این مطالعه محتوای فنل‌ها در عصاره گیاهان تازه پس از ۳۰ روز پس از تیمار با کمترین (C1 ¼ 12.5 میکروگرم mL1) و بالاترین (C3 ¼ 1000 میکروگرم mL1) دوز nHAPs و nP بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد که محتویات فنل با کنترل تیمار نشده قابل مقایسه بود. و تیمار با NMهای مبتنی بر P در شرایط خاک اسیدی و بازی به جوانه‌زنی، زیست‌توده و طول گیاه در آزمایش گلدانی اتاق رشد کمک می‌کند. این نشان می‌دهد که گیاهان در هنگام اعمال NMها تنش را تجربه نمی‌کنند. هیچ گزارش قابل توجهی در مورد شاخص‌های تنش در گیاهان در معرض NMهای مبتنی بر P با استفاده از ویژگی‌های بیوشیمیایی وجود ندارد (Priyam *et al*., 2022).

فلاونوئید

بر اساس نتایج مقایسات میانگین نمودار شکل ۳ نشان داده شده است که، کاهش تدریجی فلاونوئیدها در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده شده در طول ذخیره‌سازی مشاهده شد. بااین وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان منجر به افزایش سطوح فلاونوئیدها در مقایسه با گروه کنترل (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان فلاونوئید در تیمار نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم روز صفر نگه‌داری به ترتیب با میزان (۷۶/۴۰) و (۷۶/۰۰۳) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر

پوشش‌ها داشت. به‌طور خاص، در تمام روزهای نگه‌داری، گروه کنترل بدون پوشش کم‌ترین فلاونوئید را نشان داد. و در روز ۲۸ نگه‌داری نسبت به سایر روزها به میزان کم‌تر ۲/۴۴ شد. که با کم‌ترین تیمار سایر روزهای نگه‌داری تفاوت معنی‌داری را نشان داد. در مقابل، نمونه تیمار شده با پوشش ترکیبی نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بیش‌ترین فلاونوئید را نشان داد که تأثیر قابل توجهی از تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند.



شکل ۳- ارزیابی پوشش‌دهی با نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر محتوای فلاونوئید نمونه‌های قارچ دکمه‌ای

حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنادار است ($p< ۰/۰۵$)

Fig. 3. Evaluation of coating with nanochitosan and nanohydroxyapatite on the flavonoid content of button mushroom samples

Different letters above the columns indicate significant difference ($p<0.05$)

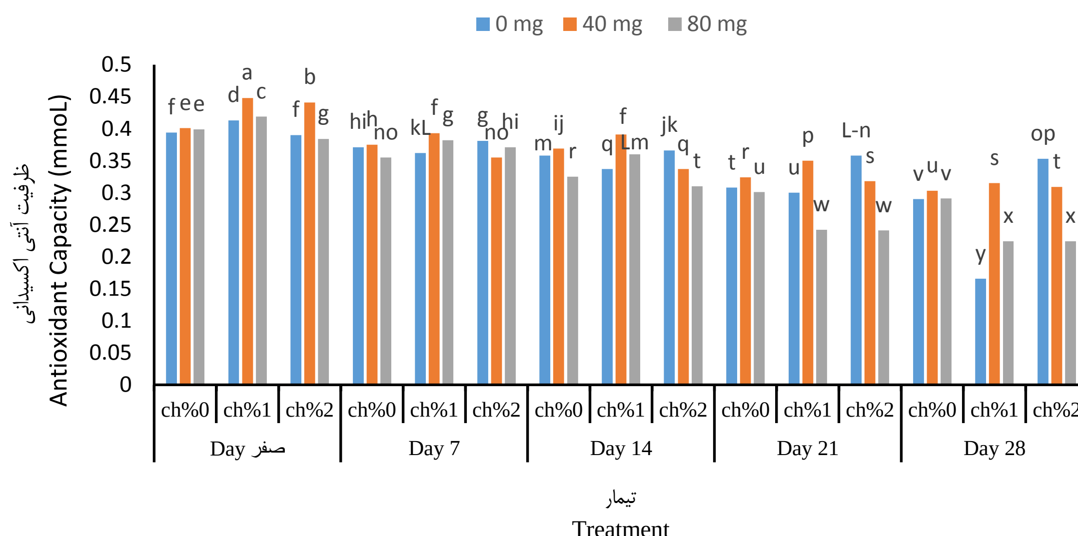
فلاونوئیدها متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که فعالیت‌های مهارکنندگی رادیکالی در برابر گونه‌های فعال اکسیژن دارند (Priyam *et al.*, 2022). تجمع متابولیت‌های ثانویه مانند فلاونوئیدها و فنولیک ها یکی از پاسخ‌های رایج گیاهان به تنش‌های زیستی و غیر زنده است (Priyam *et al.*, 2022). در مطالعه‌ای اثرات کوددهی انواع مختلف - NMهای مبتنی بر P را که از نظر شکل، اندازه و مسیر سنتز متفاوت هستند با استفاده از OECD TG 208 بر روی *Solanum lycopersicum* بررسی شد. کاربرد خاکی nHAPs و nP به‌عنوان نانومواد مغذی فسفر استفاده شد. در این مطالعه محتوای فلاونوئیدها در عصاره گیاهان تازه پس از ۳۰ روز پس از تیمار با کمترین (C1 ¼ 12.5 میکروگرم mL1) و بالاترین (C3 ¼ 1000 میکروگرم mL1) دوز nHAPs و nP بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد که محتویات فلاونوئیدها نیز با کنترل تیمار نشده قابل مقایسه بود. و تیمار با NM-های مبتنی بر P در شرایط خاک اسیدی و بازی به جوانه‌زنی، زیست توده و طول گیاه در آزمایش گلدانی اتاق رشد کمک می‌کند. این نشان می‌دهد که به‌دلیل اندازه کوچک‌تر و در نتیجه نسبت سطح به حجم بالاتر، NMهای مبتنی بر P ممکن است جذب بیش‌تری در گیاهان داشته باشند و در نتیجه کارایی کوددهی در همان دوزها در مقایسه با تیمار با منابع فسفر حجیم بهبود یافته است. این نشان می‌دهد که گیاهان در هنگام اعمال NMها تنش را تجربه نمی‌کنند (Priyam *et al.*, 2022). برخلاف این مطالعه، قرار گرفتن ریحان در معرض روی و مس سنتز شده سبز منجر به افزایش سطح فنولیک‌ها و فلاونوئیدها شده است (Abbasifar *et al.*, 2020). در مطالعه دیگری، قرار گرفتن در معرض نانوذرات سولفات مس باعث افزایش محتوای فنولیک و فلاونوئید در *Verbena bipinnatifida* Nutt (Genady *et al.*, 2016) و NMهای نقره افزایش استرس اکسیداتیو و افزایش سطح فنل‌ها و فلاونوئیدها در سیب‌زمینی را نشان دادند (Homaee *et al.*, 2016).

این گزارشات تأیید می‌کنند که NMهای مبتنی بر P بیوژن می توانند به‌عنوان یک جایگزین «دوستانه با محیط‌زیست» برای NMهای مبتنی بر P موجود با منشاء شیمیایی عمل کنند. بنابراین، نتایج حاصل از این مطالعه و مطالعات انجام شده دیگر، مزایای جوانه‌زنی و تقویت رشد و افزایش ماندگاری پس از برداشت، استفاده از NMهای مبتنی بر P به‌عنوان کود و تیمار پس از برداشتی در انواع خاک‌هایی که دارای

تغییرات pH هستند و نیز به‌عنوان پوشش طبیعی برای افزایش ماندگاری پس از برداشت محصولات را برجسته می‌کند. نتایج مثبت این مطالعه همچنین بر اهمیت آزمایش این NMهای مبتنی بر P در شرایط دمایی مختلف با انواع مختلف محصولات برای تأیید بیش‌تر میزان عمر ماندگاری محصولات با NMها تأکید می‌کند.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (FRAP)

نتایج مقایسات میانگین نمودار شکل ۴ نشان داد، کاهش تدریجی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده شده در طول ذخیره‌سازی مشاهده شد. بااین وجود، استفاده از پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت منجر به افزایش سطوح ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با گروه کنترل (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم روز صفر نگه‌داری با میزان (۰/۴۴۸) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر پوشش‌ها در طی روزهای نگه‌داری داشت. به‌طور خاص، در روز ۲۸ نگه‌داری، پوشش نانوکیتوزان یک درصد کم‌ترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد. که با کم‌ترین تیمار سایر روزهای نگه‌داری تفاوت معنی‌داری را نشان داد. در مقابل، نمونه تیمار شده با پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم بیش‌ترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد که تأثیر قابل توجهی از تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند.



شکل ٤- ارزیابی پوشش‌دهی با نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر محتوای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های قارچ دکمه‌ای

حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنادار است (p< ۰/۰۵)

Fig. 4. Evaluation of coating with nanochitosan and nanohydroxyapatite on the content of antioxidant capacity of button mushroom samples

Different letters above the columns indicate significant difference (p<0.05)

در ابتدا، در روز صفر، امکان مشاهده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر در قارچ‌های پوشش داده شده با نانوکیتوزان حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت نسبت به قارچ‌های بدون پوشش وجود داشت. این فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر به‌دلیل وجود نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بود که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شناخته شده‌ای دارد. در طول مدت نگه‌داری، این دو گروه از قارچ‌ها کاهش سریعی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود نشان دادند. این نتایج یک ارتباط مستقیم بین محتوای کل پلی‌فنل‌های توصیف شده در بالا و حضور نانوهیدروکسی آپاتیت در پوشش‌ها را نشان داد. قارچ‌های پوشش‌داده شده با نانوکیتوزان حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت محتوای پلی‌فنل بالاتری داشتند. بنابراین، ترکیبات فنلی نقش مهمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی قارچ دارند. علاوه بر این، وجود نانوهیدروکسی آپاتیت در این پوشش‌ها به آن‌ها اجازه می دهد تا ظرفیت بیش‌تری در از بین بردن رادیکال ظرفیت آنتی‌اکسیدانی داشته باشند.

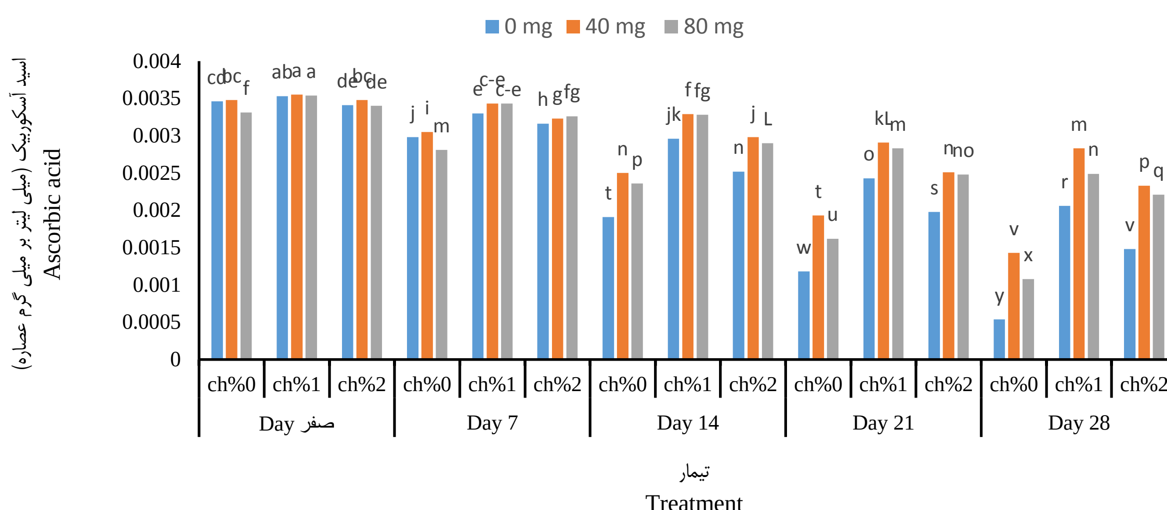
در آزمایشی اثر بازدارندگی عصاره آبی پوسته سبز پسته بر فعالیت تیروزیناز قارچ پس از برداشت نشان داد که فعالیت‌های رادیکال DPPH قارچ‌های تیمار شده در روزهای ۱ و ۱۰ ذخیره‌سازی کاهش یافت. در روز اول، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قارچ تیمار شده با عصاره پوست سبز پسته، اسیدهای اسکوربیک سیتریک و متابی‌سولفیت سدیم به

ترتیب ۶/۲، ۶ و ۶/۱ درصد بیش‌تر از شاهد بود. اما در پایان زمان نگه-داری، فقط قارچ‌های تیمار شده با عصاره پوست سبز پسته دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر (۴,۵٪) و قارچهای تیمار شده با اسیدهای آسکوربیک–سیتریک و متابی‌سولفیت سدیم ۱,۸ و ۱۰,۲ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی کم‌تری نسبت به شاهد داشتند (Fattahifar *et al.*, 2018).

این نتایج نشان می‌دهد که استفاده از پوشش‌های نانوکیتوزان حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت در قارچها از ترکیبات فنلی آن‌ها محافظت می‌کند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را حفظ می‌کند، ویژگی‌هایی که برای ارتقای سلامت مصرف کنندگان مرتبط است.

محتوای اسید آسکوربیک (ویتامین C)

همان‌طور که در نمودار شکل ۵ نشان داده شده است، کاهش تدریجی محتوای اسید آسکوربیک در قارچهای بدون پوشش و پوشش داده شده در طول ذخیره‌سازی مشاهده شد. بااین وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان از روز ۱۴ تا ۲۸ نگه‌داری منجر به افزایش سطوح اسید آسکوربیک در مقایسه با گروه کنترل (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان اسید آسکوربیک در تیمار نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم روز صفر نگه‌داری با میزان (۰/۰۰۳۵۵) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها بجز پوشش نانوکیتوزان یک درصد به تنهایی و در ترکیب با نانوهیدروکسی آپاتیت ۸۰ میلی‌گرم در روز صفر نگه‌داری داشت. به‌طور خاص، در روزهای نگه‌داری صفر و ۷، پوشش نانوهیدروکسی آپاتیت ۸۰ میلی‌گرم و از روز ۱۴ تا پایان روزهای نگه داری گروه کنترل بدون پوشش کم‌ترین اسید آسکوربیک را نشان داد. که کم‌ترین تیمار روزهای نگه‌داری تفاوت معنی‌داری را با هم نشان دادند. در مقابل، نمونه تیمار شده با پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم بیش‌ترین اسید آسکوربیک را نشان داد که تأثیر قابل توجهی از تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند.



شکل ۵- ارزیابی پوشش‌دهی با نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر محتوای اسید اسکوربیک نمونه‌های قارچ دکمه‌ای

حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنادار است ($p< ۰/۰۵$)

Fig. 5. Evaluation of coating with nanochitosan and nanohydroxyapatite on ascorbic acid content of button mushroom samples

Different letters above the columns indicate significant difference ($p<0.05$)

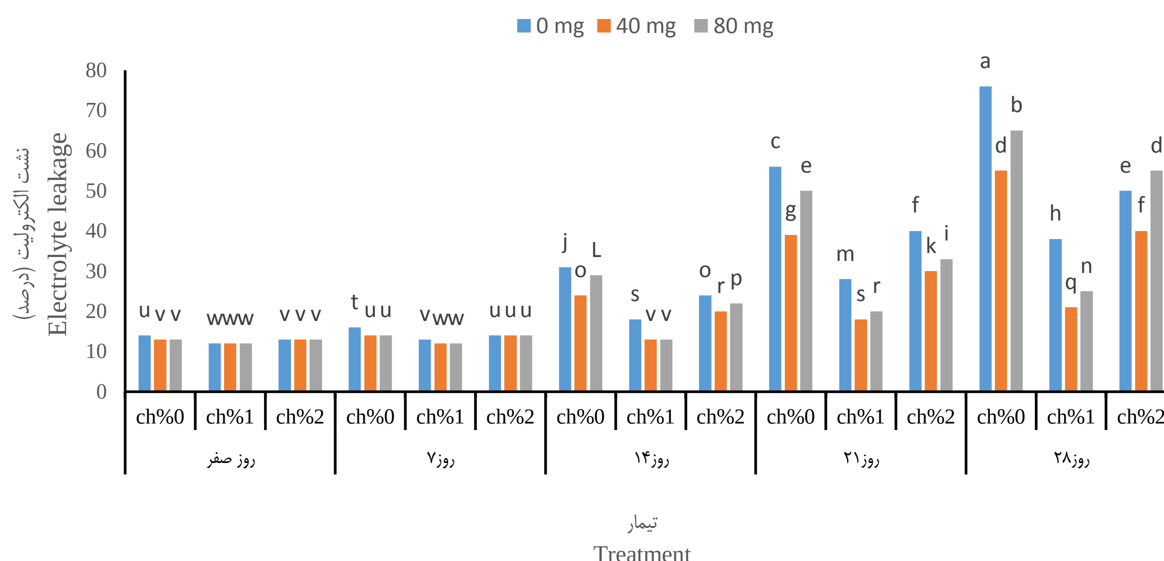
اسید اسکوربیک، محلول در آب و یک آنتی‌اکسیدان قوی است که آسیب ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن در میوه‌ها و سبزیجات را کاهش می‌دهد. میوه‌ها و سبزیجات منبع طبیعی اسید اسکوربیک هستند و در طول رسیدن از بین می‌روند (Nasiri *et al.*, 2017). از آنجایی که از دست دادن اسید اسکوربیک می‌تواند به میزان زیادی با حضور O_2 بهبود یابد، پوشش‌دهی می‌تواند انتشار اکسیژن را کاهش داده و در نتیجه فرآیند رسیدن را کاهش دهد و در نتیجه محتوای اسید اسکوربیک را بهتر حفظ کند و پیری قارچ را به تأخیر بیاندازد (Khaliq *et al.*, 2015). به‌دلیل اثرات محافظتی فنلیک‌های آنتی‌اکسیدانی در این پوشش‌ها، افزودن نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت ممکن است فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتری این پوشش‌ها را بهبود بخشد.

نتایج مطالعه‌ای بر روی افزایش ماندگاری قارچ دکمه‌ای با تیمار ارگوتیونئین نشان داد که، محتوای اسید اسکوربیک در قارچ‌های شاهد در ۹ روز اولیه کاهش نشان داد و سپس در سطح پایدار نگه داشت.

تیمار EGT به‌طور قابل توجهی محتوای اسید اسکوربیک را ارتقا داد و ۳۴/۸ درصد بیش‌تر از گروه‌های کنترل در روز ۱۷ نشان داد (Qian *et al*., 2021). طی مطالعه‌ای بر روی ماندگاری قارچ دکمه‌ای تغییرات در محتوای اسید اسکوربیک (AA) نمونه‌ها در طول نگه‌داری ۱۶ روزه نشان داد که اسید اسکوربیک در قارچ‌های تیمار شده و تیمار نشده با افزایش مدت نگه‌داری به تدریج کاهش یافت. TGZEO10 به‌طور قابل توجهی از دست دادن اسید اسکوربیک را در مقایسه با نمونه شاهد پس از ۱۶ روز نگه‌داری مهار کرد. بنابراین، پوشش TGZEO می‌تواند از، از دست دادن ویتامین C جلوگیری کند (Nasiri *et al*., 2017).

نشت الکترولیت

مطابق با نمودار شکل ۶ نشان داده شده است، افزایش تدریجی نشت الکترولیت در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده شده در طول ذخیره‌سازی مشاهده شد. بااین وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان منجر به کاهش نشت الکترولیت در مقایسه با گروه کنترل (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان نشت الکترولیت در تیمار گروه کنترل روز ۲۸ نگه‌داری با میزان (۰/۷۶) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها در طی روزهای نگه داری داشت. به‌طور خاص، در تمام روزهای نگه‌داری، پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم کم ترین میزان نشت الکترولیت را نشان داد و تا روز ۷ نگه‌داری روند ثابت و از روز ۱۴ تا ۲۸ نگه‌داری روند افزایشی داشت. در مقابل، نمونه کنترل بیش‌ترین نشت الکترولیت را در طی دوره ذخیره‌سازی نشان داد که تأثیر قابل توجهی از تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند.



شکل ٦- ارزیابی پوشش‌دهی با نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر محتوای نشت الکترولیت نمونه‌های قارچ دکمه‌ای

حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنادار است (p< ۰/۰۵)

Fig. 6. Evaluation of coating with nanochitosan and nanohydroxyapatite on the electrolyte leakage content of button mushroom samples

Different letters above the columns indicate significant difference (p<0.05)

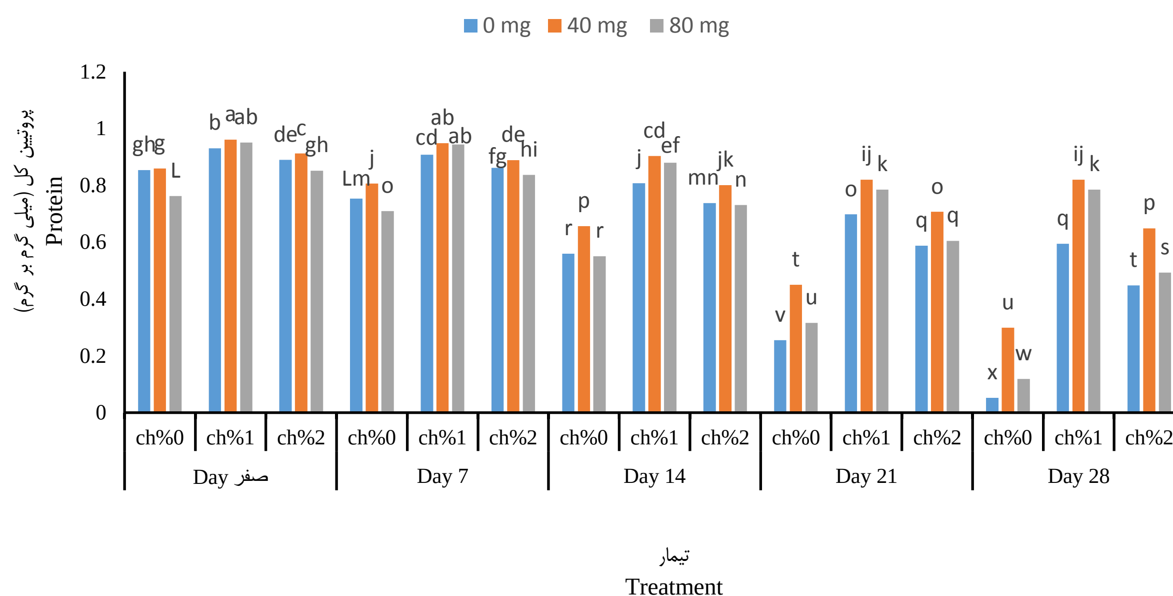
نفوذپذیری غشای قارچ اغلب با نرخ نشت الکترولیت قارچ منعکس می‌شود (Rokayya *et al*., 2021). نرخ نشت الکترولیت قارچ‌ها در تیمارهای بدون پوشش و پوشش‌دهی شده با مدت زمان نگه‌داری افزایش یافت که نشان‌دهنده کاهش یکپارچگی غشاء است. علاوه بر این، قارچ‌های دارای پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم، نرخ نشت الکترولیت به‌طور قابل‌توجهی کم‌تری نسبت به قارچ‌های پوشش‌دهی شده با تیمارهای دیگر نشان دادند، که می‌تواند به فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوکیتوزان و فعالیت ضدباکتری نانوهیدروکسی آپاتیت نسبت داده شود.

نتایج آزمایش حاضر با نتایج لیو و همکاران (Liu *et al., 2019*) که نرخ نشت الکترولیت قارچ‌ها در تمام گروه‌ها در آن با مدت زمان نگه‌داری افزایش یافت، مطابقت داشت. در مطالعه‌ای که بر روی تاثیر فیلم‌های نانو بر ماندگاری قارچ‌های دکمه‌ای سفید انجام شد نشان داده شد که، پایداری نفوذپذیری غشای سلولی با استفاده از درصد نشت نسبی الکترولیت با مدت زمان نگه‌داری افزایش می‌یابد و بین نمونه

های قارچ تیمار شده و تیمار نشده تفاوت معنی‌داری وجود داشت. نمونه‌های کیتوزان/نانو سیلیس (۲۴,۴۴٪) کم‌ترین مقدار نشت الکترولیت را ثبت کردند زیرا غلظت گاز اکسیژن کم می‌تواند سرعت تنفس، کاهش وزن و باز شدن درپوش را کاهش دهد. قارچ‌های تیمار نشده بالاترین میزان نشت الکترولیت (۳۴/۰۱ درصد) را نشان دادند (Rokayya *et al.*, 2021). در مطالعه‌ای بر روی افزایش ماندگاری قارچ دکمه‌ای با تیمار ارگوتیونئین نشان داده شد که، نرخ نشت الکترولیت با افزایش زمان نگه‌داری در هر دو گروه افزایش یافت و نرخ نشت الکترولیت کم‌تر در قارچ‌های تیمار شده با EGT مشاهده شد. نرخ نشت الکترولیت قارچ‌های تیمار شده با EGT 10.93 درصد کم‌تر از شاهد در روز ۱۷ بود (Qian *et al.*, 2021).

پروتئین کل

همان‌طور که در نمودار شکل ۷ نشان داده شده است، کاهش تدریجی محتوای پروتئین کل در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده شده در طول ذخیره‌سازی مشاهده شد. بااین وجود، استفاده از پوشش های نانوهیدروکسی آپاتیت به تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان در روز ۲۱ و ۲۸ نگه‌داری منجر به افزایش پروتئین کل در مقایسه با گروه کنترل (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان پروتئین کل در تیمار نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم روز صفر نگه‌داری با میزان (۰/۹۶۱) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها بجز پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۸۰ میلی‌گرم در روز صفر و ۷ نگه‌داری و پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم روز ۷ نگه‌داری داشت. به‌طور خاص، در روزهای نگه‌داری صفر، ۷ و ۱۴، پوشش نانوهیدروکسی آپاتیت ۸۰ میلی‌گرم و در روز ۲۱ و ۲۸ نگه‌داری گروه کنترل بدون پوشش کم‌ترین پروتئین کل را نشان داد. که کم‌ترین تیمار روزهای نگه‌داری تفاوت معنی‌داری را با هم نشان دادند. در مقابل، نمونه تیمار شده با پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم بیش‌ترین پروتئین کل را نشان داد که تأثیر قابل توجهی از تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند.



شکل ۷- ارزیابی پوشش‌دهی با نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر محتوای پروتئین کل نمونه‌های قارچ دکمه‌ای

حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنادار است (p< ۰/۰۵)

Fig. 7. Evaluation of coating with nanochitosan and nanohydroxyapatite on the total protein content of button mushroom samples

Different letters above the columns indicate significant difference (p<0.05)

مقایسه نتایج نشان می‌دهد که با گذشت زمان در مقایسه با نمونه کنترل، پوشش‌ها تأثیر معناداری روی افزایش میزان پروتئین داشته‌اند. پروتئولیز و تخریب پروتئین سبب پیری بافت می‌شوند. هرعاملی که بتواند سبب کاهش این روند شود پیری را به تأخیر می‌اندازد. (Hamzeh-kalkenari *et al.*, 2015).

در پژوهشی تحت عنوان بررسی اثر بازدارندگی عصاره آبی پوسته سبز پسته بر فعالیت تیروزیناز قارچ و کاربرد آن به‌عنوان یک عامل ضدقهوه ای شدن پس از برداشت قارچ دکمه‌ای نشان داده شده است که، محتوای پروتئین قارچ تیمار شده با عصاره پوست سبز پسته و متابی سولفیت سدیم به‌طور قابل توجهی با قارچ‌های شاهد متفاوت است، اما هیچ تفاوت معنی‌داری بین قارچ تیمار شده با اسید اسکورتیک و کنترل در روز ۱ و ۱۰ ذخیره‌سازی وجود ندارد. تفاوت قابل توجهی بین نمونه-های تیمار شده و شاهد یافت نشد و از طرف دیگر، این تیمارها تأثیر منفی بر محتوای پروتئین قارچ نداشتند (Fattahifar *et al*., 2018).

در پژوهشی که بر روی اثر پوشش اسانس خوشاریزه و فیلم‌های بسته‌بندی بر ویژگی‌های کمی و کیفی پس از برداشت قارچ دکمه‌ای صورت گرفت مشاهده شد که بالاترین میزان پروتئین را ترکیب تیماری کاربرد فیلم پلی‌اتیلن ۴۰ میکرومتر و عدم کاربرد اسانس نشان داد که معادل ۱/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بود. استفاده از اسانس خوشاریزه و کاربرد فیلم‌های بسته‌بندی توانست میزان پروتئین را نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری حفظ کند. اسانس در طی مراحل نمونه‌برداری سبب افزایش میزان پروتئین کل گردید. در طی زمان، کاربرد پلی اتیلن ۴۰ و نانو کامپوزیت رس به همراه کاربرد اسانس توانست میزان پروتئین را درسطح بالا نگه دارد (Hamzeh-kalkenari *et al*., 2015).

نتیجه‌گیری

به‌دلیل فسادپذیری بالای قارچ دکمه‌ای، نگه‌داری از آن اهمیت ویژه‌ای دارد. یکی از روش‌های نگه‌داری قارچ دکمه‌ای پوشش‌دهی به وسیله پوشش‌های طبیعی می‌باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی اثر پوشش طبیعی مبتنی بر نانوذرات کیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر میزان اندازه‌گیری صفات فنل کل، فلاونوئید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای اسید آسکوربیک، نشت الکترولیت و پروتئین کل قارچ‌ها در روزهای صفر، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ نگه‌داری و افزایش زمان ماندگاری قارچ دکمه‌ای در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان بود. به این منظور از پوشش نانوذرات کیتوزان (صفر، ۱ درصد، ۲ درصد)، نانوهیدروکسی آپاتیت (صفر، ۴۰، ۸۰ میلی‌گرم)، ترکیب نانوذرات کیتوزان با نانوهیدروکسی آپاتیت در غلظت‌های ذکر شده استفاده گردید. به‌طور کلی نتایج نشان داد که پوشش نانوذرات کیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم بیش‌ترین تأثیر را بر فنل‌کل، فلاونوئید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای اسید آسکوربیک و پروتئین کل نسبت به نمونه کنترل داشت و باعث کاهش، نشت الکترولیت نسبت به نمونه کنترل بدون پوشش در طی روزهای نگه‌داری شده است و می‌تواند ماندگاری و بازارپسندی پس از برداشت قارچ دکمه‌ای را تا روز ۱۴ افزایش دهد. بنابر این استفاده از این پوشش برای افزایش عمر انبارمانی قارچ دکمه‌ای توصیه می‌شود.

میزان مشارکت نویسندگان

ضیائی: تحقیق و بررسی، جمع‌آوری داده‌ها، نوشتن پیش‌نویس اصلی، تأمین مالی، **راجی:** مدیریت پروژه، نظارت، بررسی و ویرایش، تأمین مالی، **احتشام نیا:** مدیریت پروژه، نظارت، بررسی و ویرایش، **سهرابی:** نظارت، بررسی و ویرایش، مدیریت داده‌ها.

منابع تأمین مالی

این کار به شماره: ۳۷۱۸۲۳۴۹، تاریخ: ۱۴۰۲/۱۲/۲۵، در سامانه گلستان سایت دانشگاه لرستان ثبت شد و با کمک مالی از طرف دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران انجام شد.

References

1. Abbasifar, A., Shahrabadi, F., & ValizadehKaji, B. (2020). Effects of green synthesized zinc and copper nano-fertilizers on the morphological and biochemical attributes of basil plant. *Journal Plant Nutrient*, *43*(8), 1104–1118. https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1724305
2. Bakhshi, D., & Arakawa, O. (2006). Effect of UV-B irradiation on phenolic compounds accumulation and their antioxidant activity in 'Jonathan' apple. *Food, Agriculture and Environment*, *4*(1), 75-79. https://www.researchgate.net/publication/289689317
3. Benzie, IF., & Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochemistry*, *239*(1),70-76. https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292
4. Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*(1–2), 248–254. https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999
5. Camargo, J., & Dunoyer, A. (2016). The effect of storage temperature and time on total phenolics and enzymatic activity of sapodilla (*Achras sapota* L.). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, *69*(2), 7955–7963. https://doi.org/10.15446/rfna.v69n2.59140

6. Chang, H.L., Chen, Y.C., & Tan, F.J. (2011). Antioxidative properties of a chitosan–glucose maillard reaction product and its effect on pork qualities during refrigerated storage. *Food Chemistry*, *124*(2), 589–595. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.080
7. Dokhanieh, A.Y., & Aghdam, M.S. (2016). Postharvest browning alleviation of *Agaricus bisporus* using salicylic acid treatment. *Science Horticulture, 207*(2), 146–151. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.05.025
8. Eswaran, M., Swamiappan, S., Chokkiah, B., Dhanusuraman, R., Bharathkumar, S., & Ponnusamy, V.K. (2021). A green and economical approach to derive nanostructured hydroxyapatite from Garra mullya fish scale waste for biocompatible energy storage applications. *Materials Letters*, *302(*20*)*, 1.130341. https://doi.org/10.1016/j.matlet.2021.130341
9. Fattahifar, E., Barzegar, M., Ahmadi Gavlighi, H., & Sahari, M.A. (2018). Evaluation of the inhibitory effect of pistachio (*Pistacia vera* L.) green hull aqueous extract on mushroom tyrosinase activity and its application as a button mushroom postharvest anti-browning agent. *Postharvest Biology and Technology*, *145*(1), 157-165. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.07.005
10. Genady, E.A., Qaid, E.A., & Fahmy, A.H. (2016). Copper sulfate nanoparticales in vitro applications on *Verbena bipinnatifida* Nutt. stimulating growth and total phenolic content increasements. *International Journal Pharmaceutically Research Allied Science*, *5*(1), 196–202.
11. Gharejelo, A., Ganjeh, M., & Ghaderi, S. (2020). Evaluation of extending the shelf life of button mushroom (*Agaricus Bisporous*) using chitosan and Ferulago angulate essential oil. *Food Science*, *21*(154), 1-88. http://fsct.modares.ac.ir/article-7-73195-en.html
12. Hamzeh-kalkenari, S., Bodaghi, H., & Ghasimi Hagh, Z. (2020). Improving postharvest quality of button mushroom (*Agaricus bisporus*) using polyethylene-clay nanocomposite packing and *Echinophora cinerea* essential oil coating. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 17*(2), 315-328.
13. Homaee, M.B., & Ehsanpour, A.A. (2016). Silver nanoparticles and silver ions: oxidative stress responses and toxicity in potato (*Solanum tuberosum* L.) grown in vitro, Horticult. *Environment Biotechnology*, *57*(6), 544–553. https://doi.org/10.1007/s13580-016-0083-z
14. Huang, R., Mao, P., Xiong, L., Qin, G., Zhou, J., Zhang, J., Li, Z., & Wu, J. (2023). Negatively charged nano-hydroxyapatite can be used as a phosphorus fertilizer to increase the efficacy of wollastonite for soil cadmium immobilization. *Journal of Hazardous Materials*, *5*(443), 1-6. https://doi.org/10./j.jhazmat.2022.130291
15. Hu Hu, Y., Zhou, Y., Liu, J.A., Wang, Q., Cheng Lin, J., & Shi, Y. (2020). Effect of 4-methoxycinnamic acid on the postharvest browning of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Journal Food Process Preservation*, *44*(1), 1-10. https://doi.org/10.1111/jfpp.14735
16. Khaliq, G.H., Mohamed, M.T.M., Ali, A., Ding, P., & Ghazalic, H.M. (2015). Effect of gum Arabic coating combined with calcium chloride on physicochemical and qualitative properties of mango (*Mangiferaindica* L.) fruit during low temperature storage. *Scientia Horticulturae*, *190*(6), 187–194. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.04.020
17. Khosravi, S., Haghighi, M., & Mehnatkesh, M. (2022). The effect of vitamin C and B treatments on button mushroom yield and postharvest life. *Journal of Horticultural Science, Research Article*, *36*(1), 43-56.
18. Karimirad, R., Behnamian, M., & Dezhsetan, S. (2019). Application of chitosan nanoparticle scontaining *Cuminum cyminum* oil asa deli very system for shelfl ifeextension of *Agaricus bisporus*. *LWT-Food Science and Technology*, *106*(4), 218-228. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.062
19. Karimirad, R., Behnamian, M., & Dezhsetan, S. (2020). Bitter orange oil incorporated into chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and their potential application on antioxidant and antimicrobial characteristics of white button mushroom. *Food Hydrocolloids*, *100*(1), 105387. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105387
20. Landa, P., Müller, K., Přerostová, S., Petrová, S., Moťková, K., Vaněk, T., & Soudek, P. (2024). Effect of nano-hydroxyapatite and phosphate on thorium toxicity – *Arabidopsis transcriptomic* study. *Environmental and Experimental Botany*, *217(*1*)*, 105573. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105573
21. Liu, J., Liu, S., Zhang, X., Kan, J., & Jin., C. (2019). Effect of gallic acid grafted chitosan film packaging on the postharvest quality of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biology and Technology*, *147(*1*)*, 39-47. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.09.004
22. Louis, E., Villalobos-Carvajal, R., Reyes-Parra, J., Jara-Quijada, E., Ruiz, C., Andrades, P., Gacitúa, J., & Beldarraín-Iznaga, T. (2021). Preservation of mushrooms (*Agaricus bisporus*) by an alginate-based-coating containing a cinnamaldehyde essential oil nanoemulsion. *Food Packaging and Shelf Life*, *28*(1), 1-10. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100662
23. Nasiri, M., Barzegar, M., Sahari, M.A., & Niakousari, M. (2017). Tragacanth gum containing *Zataria multiflora* Boiss essential oil as a natural preservative for storage of button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Food Hydrocolloids*, *72*(3), 202–209. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.05.045

24. Paula, C., Carole, F., Shiv, S., Stephane, S., & Monique, L. (2021). Influence of cellulose nanocrystals gellan gum-based coating on color and respiration rate of *Agaricus bisporus* mushrooms. *Journal of Food Science*, *86*(2), 420-425. https://doi.org/10.1111/1750-3841.15580
25. Pabast, M., Shariatifar, N., Beikzadeh, S., & Jahed, G. (2018). Effects of chitosan coatings incorporating with free or nanoencapsulated *Satureja* plant essential oil on quality characteristics of lamb meat. *Food Control*, *91*(2), 185-192. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.03.047
26. Priyam, A., Yadav, N., Reddy, P.M., Afonso, L.O.B., Schultz, A.G., & Singh, P.P. (2022). Fertilizing benefits of biogenic phosphorous nanonutrients on *Solanum lycopersicum* in soils with variable pH. *Heliyon*, *8*(1), e09144. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09144
27. Qian, X., Hou, Q., Liu, J., Huang, Q., Jin, Z., Zhou, Q., Jiang, T., & Zheng, X. (2021). Inhibition of browning and shelf life extension of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by ergothioneine treatment. *Scientia Horticulturae, 288(2)*, 1-8. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110385
28. Rokayya, S., Ebtihal, K., Abeer, E., Nada, B., Murthy, C., Kambhampati, V., Abdullah, I., & Mahmoud, H. (2021). Investigating the nano-films effect on physical, mechanical properties, chemical changes, and microbial load contamination of white button mushrooms during storage. *Coatings, 11*(1), 2-12 https://doi.org/10.3390/coatings11010044
29. Shao, P., Yu, J., Chen, H., & Gao, H. (2021). Development of microcapsule bioactive paper loaded with cinnamon essential oil to improve the quality of edible fungi. *Food Packaging and Shelf Life, 27*(2), 1-9. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100617
30. Sharifianjazi, F., Esmaeilkhanian, A., Moradi, M., Pakseresht, A., Shahedi Asl, M., Won Jang, H., & Varma, R.S. (2021). Biocompatibility and mechanical properties of pigeon bone waste extracted natural nano-hydroxyapatite for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering:B, 264*(1), 114950. https://doi.org/10.1016/j.mseb.2020.114950
31. Sairam, R.K., Dharmar, K., Chinnusamy, V., & Meena, R. (2002). Waterlogging induced increase in sugar mobilization, fermentation, and related gene expression in the roots of mungbean (*Vigna radiata*). *Journal Plant Physiology*, *166(1)*, 602-616. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.09.005
32. Victor Aberea, D., Sammy A. Ojob, Oyatogunc, G.M., Belen Paredes-Epinosaa, M., Carmalita Dharsika Niluxsshuna, M., & Hakamid, A. (2022). Mechanical and morphological characterization of nano-hydroxyapatite (nHA) for bone regeneration: A mini review. *Biomedical Engineering Advances, 4*(1), 100056. https://doi.org/10.1016/j.bea.2022.100056
33. Zhang, L., Liu, Z., Wang, X., Dong, S., Sun, Y., & Zhao, Z. (2019). The properties of chitosan/zein blend film and effect of film on quality of mushroom (*Agaricus bisporus*). *Journal Postharvest Biology and Technology*, *155*(1), 47-56. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.05.013